

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
6. Mai 2005 (06.05.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/040408 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12Q 1/02**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/012017

(22) Internationales Anmeldedatum:
22. Oktober 2004 (22.10.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
03023953.7 22. Oktober 2003 (22.10.2003) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SELECORE GMBH [DE/DE]; Burckhardtweg 2, 37077 Göttingen (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KOLMAR, Harald [DE/DE]; Henri-Dunant-Strasse 17, 37075 Göttingen (DE).

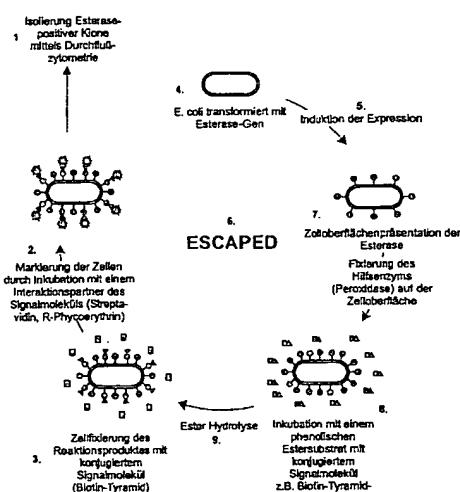
(74) Anwalt: VOSSIUS & PARTNER; Siebertstrasse 4, 81675 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE IDENTIFICATION OF ENZYMES HAVING DESIRED PROPERTIES BY IMMOBILISATION OF THE REACTION PRODUCT ON THE SURFACE OF ENZYME-PRESENTING ORGANISMS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG VON ENZYMEN MIT GEWÜNSCHTEN EIGENSCHAFTEN DURCH VERANKERUNG DER REAKTIONSPRODUKTE AUF DER OBERFLÄCHE ENZYMPRÄSENTIERENDER ORGANISMEN



- 1...ISOLATING ESTERASE-POSITIVE CLONES BY FLOW-THROUGH CYTOMETRY
- 2...MARKING CELLS BY INCUBATING WITH AN INTERACTION PARTNER OF THE SIGNAL MOLECULE (STREPTAVIDIN, R-PHYCOERYTHRIN)
- 3...CELL FIXING THE REACTION PRODUCT TO CONJUGATED SIGNAL MOLECULE (BIOTIN TYRAMIDE)
- 4...E. COLI TRANSFORMED WITH ESTERASE GENE
- 5...INDUCTING THE EXPRESSION
- 6...ESCAPED
- 7...CELL SURFACE PRESENTATION OF THE ESTERASE FIXING THE AUXILIARY ENZYME (PEROXIDASE) TO THE CELL SURFACE
- 8...INCUBATING WITH A PHENOLIC ESTER SUBSTRATE WITH CONJUGATED SIGNAL MOLECULE
E.G. BIOTIN TYRAMIDE FATTY ACID ESTER
- 9...ESTER HYDROLYSIS

(57) Abstract: The invention relates to a method for the identification of enzymes with a desired activity, by random generation of a large collection of enzyme variants, the synthesis of said variants in host organisms, the presentation thereof on the surface of the organisms and the isolation of enzyme variants with the desired properties, by the detection of the covalent deposition of the reaction product on the surface of the host organism.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben wird ein Verfahren zur Identifizierung von Enzymen mit einer gewünschten Aktivität durch zufalls-mässige Erzeugung einer grossen Sammlung von Enzymvarianten, die Synthese dieser Varianten in Wirtsorganismen, deren Präsentation auf der Oberfläche der Organismen und die Isolierung von Enzymvarianten mit den gewünschten Eigenschaften durch den Nachweis der kovalenten Deposition des Reaktionsproduktes auf der Oberfläche des Wirts-organismus.

WO 2005/040408 A1



TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zwei- und Dreibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.